



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑳ Aktenzeichen: 195 18 913.2-42  
㉑ Anmeldetag: 29. 5. 95  
㉒ Offenlegungstag: —  
㉓ Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung: 28. 11. 98

DE 195 18 913 C 1

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

㉔ Patentinhaber:  
Müller, Wolf-Rüdiger, Dr.-Ing., 70563 Stuttgart, DE;  
Jörg, Ralf, Dipl.-Biol., 70569 Stuttgart, DE

㉕ Vertreter:  
Möbus und Kollegen, 72762 Reutlingen

㉖ Erfinder:  
gleich Patentinhaber

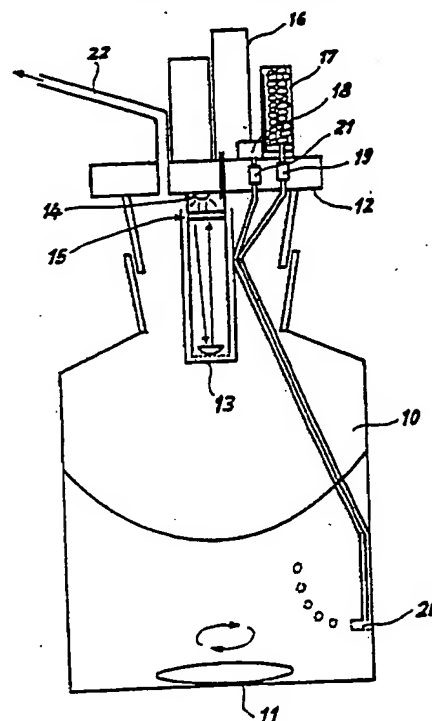
㉗ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit  
in Betracht gezogene Druckschriften:

DE 38 38 508 C2  
DE 30 28 013 C2  
US 50 51 551  
EP 01 23 458 B1  
EP 03 15 944 A2  
EP 02 43 139 A2  
EP 01 51 855 A1

DIN EN 29439;  
W. Schäfer, M. Zöchbauer, tm Heft 6/1985,  
S. 233-240;

㉘ Verfahren und Vorrichtung zur Überprüfung der aeroben biologischen Abbaubarkeit von Testsubstanzen

㉙ Verfahren und Vorrichtung zur kontinuierlichen Messung  
der CO<sub>2</sub>-Konzentration in geschlossenen Systemen, wobei  
die Infrarot-Absorption des im System vorhandenen oder  
entstehenden Gases gemessen wird, ohne dem System zu  
Meßzwecken Gas zu entnehmen.



DE 195 18 913 C 1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Überprüfung der aeroben biologischen Abbaubarkeit von Testsubstanzen.

Bei aeroben biologischen Tests in einem geschlossenen System läßt sich aus dem gesamten entstehenden CO<sub>2</sub>, das mit zunehmendem biochemischen Abbau im Rahmen einer Mineralisation ansteigt, der nach der Versuchszeit erreichte Abbaugrad ermitteln, wie beispielsweise auch in der DIN-EN 29 439 angegeben ist. Bislang werden hierzu z. B. in einem Reaktionsgefäß mit der Testsubstanz sowie Mikroorganismen in zeitlichen Abständen Gasproben entnommen und diese analysiert. Aus der EP 0 151 855 ist ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Bestimmung eines Mikroorganismus über Messung des während des Abbaus einer bestimmten Substanz durch diesen Mikroorganismus entstehende CO<sub>2</sub>-Konzentration bekannt, wobei der Versuchsanordnung bei der Messung kein Gas entnommen wird. Die CO<sub>2</sub>-Messung erfolgt — wie bei der Vorrichtung nach der EP 0 315 944 — über die Messung der Infrarot-Absorption durch das entstehende Gas. Weitere Meßanordnungen für die Erfassung der Infrarot-Absorption von Gasen sind in der US-PS 5,051,551 und der EP 0 123 458 beschrieben. Allen diesen Meßanordnungen ist gemein, daß den Systemen zur Messung kein Gas entnommen werden muß, was die Versuchsbedingungen stören würde. Die Versuchsbedingungen verändern sich jedoch auch durch die Aufkonzentrierung von CO<sub>2</sub>, was in einer Rückkopplung zu einer ökologischen Beeinträchtigung des Systems und damit zu einer Verfälschung der Ergebnisse im Vergleich zu natürlichen Bedingungen oder zu vorgegebenen wohldefinierten Randbedingungen führt. Für diese Problematik bieten die bekannten Verfahren und Vorrichtungen jedoch keine Lösung.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung und ein Verfahren zu schaffen, mit denen über eine kontinuierliche Erfassung der CO<sub>2</sub>-Konzentration in geschlossenen Systemen, ohne Störung sonstiger Systemeigenschaften eine Überprüfung der aeroben biologischen Abbaubarkeit von Substanzen vorgenommen werden kann.

Die Aufgabe wird mit einem Verfahren mit den Merkmalen des Anspruches 1 gelöst. Durch eine Gasumwälzung im System werden die Versuchsbedingungen nicht gestört. Somit eignet sich das erfindungsgemäße Verfahren auch als Zusatzverfahren zu anderen Gasanalysen bzw. zur Messung des Sauerstoffverbrauches, der bei aeroben biologischen Abbauprozessen ein wichtiger Indikator für die Abbaubarkeit ist. Die Regelung der CO<sub>2</sub>-Konzentration kann auf einen vorgegebenen Wert oder Wertebereich vorgenommen werden, der weit außerhalb der natürlichen CO<sub>2</sub>-Gehalte der Luft liegen kann. Beim Einsatz des erfindungsgemäßen Verfahrens auf biologische Abbauteils unter aeroben Bedingungen kann der Versuchsverlauf dann wie folgt aussehen: Nach Ansetzen der Testsubstanz mit entsprechenden Mikroorganismen wird das System hermetisch abgeschlossen. Die im System befindliche Gasphase hat zu Versuchsbeginn die Zusammensetzung der Luft. Die Konzentration von CO<sub>2</sub> in der Gasphase wird über die Infrarot-Absorption mit Hilfe eines Sensors exakt erfaßt. Nach Einsetzen der mikrobiologischen Stoffwechselprozesse wird unter Sauerstoffverbrauch CO<sub>2</sub> gebildet. Eine kontinuierliche Umwälzung der Gasphase des Systems beispielsweise über Mikropumpen durch die

Infrarot-Meßanordnung gewährleistet eine spektroskopische Verfolgung der Konzentrationszunahme des CO<sub>2</sub>. Bei Erreichen eines vorgebbaren Schwellwertes für die CO<sub>2</sub>-Konzentration im Gasraum kann ein Teil des CO<sub>2</sub> durch einen CO<sub>2</sub>-Absorber aus dem System entfernt und durch ein anderes Gas oder Gasgemisch, insbesondere durch Sauerstoff, ersetzt werden. Die Absorption erfolgt dabei solange, bis ein unterer vorgegebener Schwellwert für die CO<sub>2</sub>-Konzentration erreicht worden ist. Damit wird durch das Entziehen von CO<sub>2</sub> aus der Vorrichtung eine Übersättigung an CO<sub>2</sub> in der meist in einer wäßrigen Lösung angesetzten Testsubstanz verhindert und eine Gleichgewichtseinstellung zwischen Gas- und Flüssigkeitsphase beschleunigt. Nach Erreichen des unteren Schwellwertes wird die Vorrichtung wieder auf normalen Umwälzbetrieb geschaltet. Der sich in der Vorrichtung durch Entzug des CO<sub>2</sub> und Sauerstoffverbrauch bildende leichte Unterdruck kann bei aeroben Abbauprozessen durch eine elektrolytische Nachlieferung einer äquivalenten Menge an Sauerstoff bis zum Erreichen eines "mittleren" Ausgangsdruckes ausgeglichen werden, dessen Schwankungsbereich von den einstellbaren CO<sub>2</sub>-Schwellwerten beeinflußt wird. Damit sind alle Ausgangsbedingungen der Versuchsanordnung wieder hergestellt und es kann ein erneuter Zyklus von Sauerstoffverbrauch, CO<sub>2</sub>-Bildung, CO<sub>2</sub>-Absorption sowie Sauerstoffnachlieferung beginnen. Die Bestimmung der gesamten entstehenden CO<sub>2</sub>-Menge als Funktion der Zeit während einer Testphase kann durch Multiplikation der Zahl aller durchgeführten Absorptionszyklen mit dem Differenzwert der CO<sub>2</sub>-Konzentration zwischen oberem und unterem Schwellwert bestimmt werden. Dieser Wert muß noch durch die Ermittlung des während der einzelnen CO<sub>2</sub>-Absorptionszyklen gebildeten CO<sub>2</sub> korrigiert werden. Hierzu kann eine mathematische Aufbereitung der Meßsignale in einer Rechneinheit erfolgen. Entscheidend ist insbesondere die Bestimmung der Steigung der Kurve des zeitlichen CO<sub>2</sub>-Konzentrationsverlaufes vor den einzelnen CO<sub>2</sub>-Absorptionszyklen. Mit Hilfe eines Extrapolationsprogrammes kann hieraus die Bildung von CO<sub>2</sub> während eines CO<sub>2</sub>-Absorptionszyklus bestimmt werden.

Vorteilhafterweise kann während des gesamten Versuches für eine Konstanzhaltung der Temperatur im System gesorgt werden. Durch die Infrarotbestrahlung der Gasphase kann es zu einer leichten Erwärmung des Gases kommen, die wieder auszugleichen ist, um die Versuchsbedingungen nicht zu verändern.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur kontinuierlichen Messung der CO<sub>2</sub>-Konzentration eines geschlossenen Systems ist gekennzeichnet durch ein Reaktionsgefäß mit einer zu untersuchenden Testsubstanz sowie einer Infrarot-Absorptionsmeßsonde und einer Mikropumpe zur Gasumwälzung im System. Außerdem ist ein CO<sub>2</sub>-Absorber vorgesehen, dem Gas über ein Zweiventil gesteuert zuleitbar ist, das Bestandteil des Umwälzkreislaufes ist. Auf diese Weise kann eine Regelung der CO<sub>2</sub>-Konzentration im System vorgenommen werden. Zweckmäßigerweise ist hierzu außerdem eine programmierbare Steuereinheit mit der Vorrichtung verbunden, über die eine Steuerung des Ventils entsprechend der erfaßten Meßdaten erfolgen kann. Außerdem können weitere Gasanalyseeinrichtungen mit der Vorrichtung verbunden sein.

Nachfolgend wird ein bevorzugtes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung anhand der Zeichnung näher erläutert.

Es zeigen:

Fig. 1 eine Prinzipdarstellung einer Versuchsanordnung mit  $\text{CO}_2$ -Konzentrationsmessung;

Fig. 2 eine prinzipielle Darstellung des zeitlichen Verlaufes der  $\text{CO}_2$ -Konzentration der Anordnung nach Fig. 1 mit  $\text{CO}_2$ -Konzentrationsregelung.

Die Anordnung nach Fig. 1 besteht aus einem Reaktionsgefäß 10, in dem eine Testsubstanz 11 in gerührter wäßriger Lösung mit Mikroorganismen angesetzt ist. Das Reaktionsgefäß 10 ist durch einen Deckel 12 gasdicht nach außen verschlossen. In dem Deckel 12 ist eine Infrarot-Absorptionsmeßsonde 13 integriert. Diese Meßsonde 13 weist eine Infrarot-Quelle sowie einen Detektor 14 auf. Das sich im Reaktionsgefäß bildende Gas gelangt durch Öffnungen 15 in die Meßsonde 13. Dort wird nach einem oszillierenden Meßprinzip der durch das Gas absorbierte Infrarotanteil bestimmt. Aus der Frequenz der sich selbsttätig einstellenden oszillierenden Meßschwingung kann auf dessen Zusammensetzung geschlossen werden. Überschreitet die gemessene  $\text{CO}_2$ -Konzentration einen vorgegebenen Schwellwert  $S_1$  (vgl. Fig. 2), wird ein Teil des Gases mittels einer Mikropumpe 16 über ein Zwewegeventil 18 einem  $\text{CO}_2$ -Absorber 17 zugeführt. Die neben dem  $\text{CO}_2$  im Gas enthaltenen Bestandteile gelangen über eine Gasleitung 19 mit Rückschlagventil wieder durch eine Gasaustrittsöffnung 20 im unteren Bereich des Reaktionsgefäßes 10 zurück in das System. Sinkt die  $\text{CO}_2$ -Konzentration aufgrund des  $\text{CO}_2$ -Absorptionsprozesses wieder unter einen vorgebbaren unteren Schwellwert  $S_2$  (vgl. Fig. 2), so schaltet das Zwewegeventil 18 um und leitet das Gas über eine weitere Gasleitung 21 mit Rückschlagventil zur Gasaustrittsöffnung 20 im Reaktionsgefäß 10. Das System arbeitet dann wieder im Umwälzbetrieb. In Fig. 1 ist außerdem ein weiterer Gasauslaß 22 gezeigt, an dem weitere Meßeinrichtungen, beispielsweise Meßeinrichtungen für den Sauerstoffverbrauch angeschlossen sein können.

Fig. 2 zeigt den zeitlichen Verlauf der  $\text{CO}_2$ -Konzentration bei der Versuchsanordnung nach Fig. 1 mit  $\text{CO}_2$ -Konzentrations-Regelung. Durch die biologischen Abbauprozesse steigt die  $\text{CO}_2$ -Konzentration des Systems in einem Bereich 30 zunächst linear an. Bei Erreichen eines oberen Schwellwertes  $S_1$  durch die  $\text{CO}_2$ -Konzentration zu einem Zeitpunkt  $t_1$  wird in der Anordnung nach Fig. 1 eine  $\text{CO}_2$ -Absorption vorgenommen. Hierdurch fällt in einem Bereich 31 die Kurve der  $\text{CO}_2$ -Konzentration wieder ab. Die  $\text{CO}_2$ -Absorption wird gestoppt, sobald die  $\text{CO}_2$ -Konzentration wieder unter einen unteren Schwellwert  $S_2$  fällt. Zu diesem Zeitpunkt  $t_2$  wird wieder auf Umwälzbetrieb umgestellt, d. h. die Kurve der  $\text{CO}_2$ -Konzentration nimmt wieder den im Bereich 30 gezeigten Verlauf an. Zur Bestimmung der gesamten, während des Versuches gebildeten Menge an  $\text{CO}_2$  wird die Zahl aller durchgeführten Absorptionszyklen mit der Differenz  $S_1 - S_2$  multipliziert und anschließend mit dem Wert der während der Absorptionszyklen gebildeten  $\text{CO}_2$ -Menge korrigiert. Zur Bestimmung dieses Korrekturwertes wird der Verlauf der  $\text{CO}_2$ -Konzentration über den Bereich 30 hinaus extrapoliert, was in Fig. 2 durch eine gestrichelte Linie 33 angedeutet ist. Aus diesem extrapolierten Verlauf der  $\text{CO}_2$ -Konzentration 33 zwischen den Zeitpunkten  $t_1$  und  $t_2$  kann die während des Absorptionszyklus produzierte  $\text{CO}_2$ -Menge berechnet werden.

# Patentansprüche

1. Verfahren zur Überprüfung der aeroben biologischen Abbaubarkeit von Testsubstanzen durch Ermittlung der gesamten  $\text{CO}_2$ -Produktion in geschlossenen Systemen, wobei die Infrarot-Absorption des im System vorhandenen oder entstehenden Gases gemessen wird, ohne dem System zu Meßzwecken Gas dauerhaft zu entnehmen, wobei ferner eine Regelung der  $\text{CO}_2$ -Konzentration auf einen vorgebbaren Wert oder Wertebereich ( $S_1 - S_2$ ) vorgenommen wird, indem bei Überschreiten eines vorgebbaren Schwellwertes ( $S_1$ ) für die  $\text{CO}_2$ -Konzentration ein Teil des  $\text{CO}_2$  durch einen  $\text{CO}_2$ -Absorber (17) aus dem System entfernt und durch ein anderes Gas oder Gasgemisch, insbesondere durch Sauerstoff ersetzt wird
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Temperatur im System konstant gehalten wird.
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß eine mathematische Aufbereitung der Meßsignale in einer Rechereinheit erfolgt.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich weitere Konzentrationsmessungen von Gasen durchgeführt werden.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich eine Stoffverbrauchsmessung durchgeführt wird.
6. Vorrichtung zur Überprüfung der biologischen Abbaubarkeit von Testsubstanzen durch Messung der  $\text{CO}_2$ -Konzentration in geschlossenen System mit einem Reaktionsgefäß (10) mit einer zu untersuchenden Testsubstanz (11) sowie einer Infrarot-Absorptionsmeßsonde (13) und einer Mikropumpe (16) zur Gasumwälzung im System, wobei außerdem ein  $\text{CO}_2$ -Absorber (17) vorgesehen ist, dem Gas über ein Zwewegeventil (18), welches Bestandteil des Umwälzkreislaufes ist, gesteuert zuleitbar ist.
7. Vorrichtung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß sie mit einer programmierbaren Steuereinheit verbunden ist.
8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß weitere Gasanalyseeinrichtungen mit der Vorrichtung verbunden sind.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -

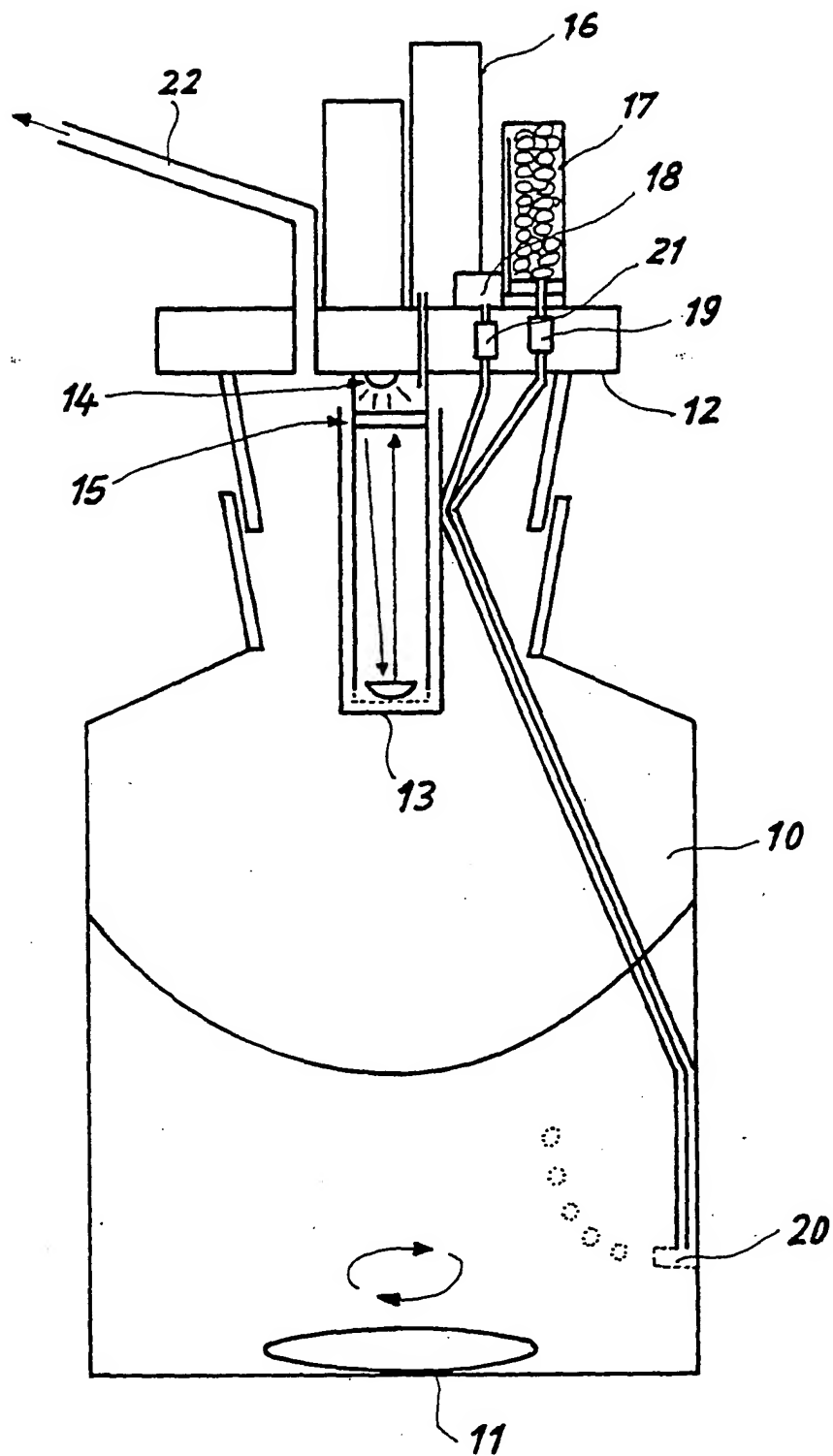


Fig. 1

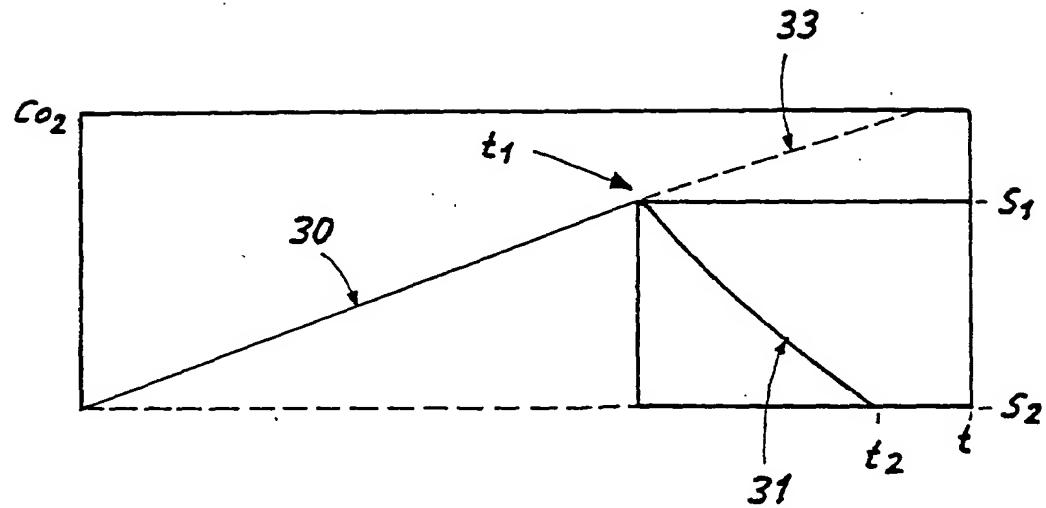


Fig. 2